

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inflamasi pulpa atau pulpitis memiliki prevalensi tinggi di Indonesia. Hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 sebesar 57,6% penduduk Indonesia mempunyai masalah gigi dan hanya sejumlah 10,2% yang telah mendapatkan pelayanan dari tenaga medis (Riskesdas, 2018). Jumlah pasien dengan diagnosis pulpitis kurang lebih 160.000 dalam jangka waktu satu tahun. Pada suatu penelitian dilaporkan dari 204 gigi dengan diagnosis pulpitis, terdapat 90 gigi (44,1%) yang mengalami perforasi disebabkan trauma mekanis (Ismiyatin *et al.*, 2020). Pada penelitian lainnya, dilaporkan sebanyak total 420 pasien di RSKGMP FKG Universitas Airlangga menderita karies profunda pada 105 dari total 169 pasien laki-laki (62,13%) dan 146 dari 251 pasien perempuan (58,17%) (Rahardjo *et al.*, 2016). Tindakan preparasi kavitas atau pengambilan jaringan karies profunda berisiko menyebabkan perforasi pulpa. Perforasi pulpa bisa disebabkan karena pemakaian bur atau alat kedokteran gigi lainnya. Pulpitis *reversible* merupakan diagnosis klinis kondisi inflamasi pulpa ringan sampai sedang yang disebabkan oleh suatu rangsangan di mana pulpa mampu kembali ke keadaan normal setelah rangsangan dihilangkan. Perawatan yang dilakukan pada gigi dengan diagnosis pulpitis *reversible* dengan kerusakan profunda maupun profunda perforasi adalah *pulpcapping*. Perawatan *pulpcapping* dibedakan menjadi 2 macam yaitu *direct* dan *indirect pulpcapping*. Pada kerusakan profunda tanpa perforasi dapat diindikasikan untuk perawatan *indirect pulpcapping*, sedangkan pada kondisi perforasi pulpa

diindikasikan untuk perawatan *direct pulp capping* (Garg and Garg, 2020). Perawatan *direct pulpcapping* merupakan suatu perawatan dengan mengaplikasikan suatu material biokompatibel di atas pulpa yang terbuka dengan tujuan membentuk dentin reparatif sehingga jaringan pulpa terlindung dari stimuli eksternal dan dapat dipertahankan vitalitasnya (Cobanoglu *et al.*, 2021).

Kalsium hidroksida sebagai *gold standard* material *pulpcapping* memiliki kemampuan dalam mineralisasi saat pembentukan dentin reparatif pada kondisi perforasi pulpa. Berdasarkan referensi dilaporkan terjadi kegagalan pada pemakaian kalsium hidroksida yang menyebabkan *moderate* inflamasi sebesar 68%, *bacterial leakage* sebesar 50% dan *tunnel defect* sebesar 89% (Komabayashi *et al.*, 2016). Efektifitas kalsium hidroksida bergantung pada disosiasi dan pelepasan ion (OH^-). Mekanisme kerja tersebut menyebabkan pH yang dihasilkan oleh kalsium hidroksida cukup tinggi yaitu 12,5. Tingginya pH kalsium hidroksida menyebabkan terjadinya inflamasi bahkan nekrosis pada lapisan superfisial pulpa yang kontak dengan material tersebut. Inflamasi pada pulpa menyebabkan sekresi sel imun fagosit dan terbentuknya jaringan granulasi pada dentin reparatif (Cobanoglu *et al.*, 2021). Kegagalan perawatan *pulpcapping* secara klinis bersifat asimtomatik, gigi berangsur-angsur menjadi nekrosis atau mengalami kalsifikasi pulpa tanpa gejala nyeri, oleh karena itu perlu kajian secara imunopatogenesis dalam menganalisis suatu material *pulpcapping* sebagai upaya meningkatkan keberhasilan perawatan (Komabayashi *et al.*, 2016).

Damaged-Associated Molecular Patterns (DAMPs) adalah molekul endogen yang dilepas secara spesifik dan cepat pada saat terjadi stress selular, cedera atau nekrosis, yang menginduksi inflamasi jaringan *host* (Relja and Land,

2020). Ikatan antara DAMPs dan TLR-4 pada permukaan sel makrofag akan mengaktivasi respons *host* melalui sekresi mediator pro-inflamasi, yaitu IL-1, IL-6, IL-8 dan TNF- α . TNF- α adalah salah satu sitokin yang memiliki peran penting pada reaksi inflamasi akut dan kronis. Produksi TNF- α memicu kompleks dentin-pulpa menghasilkan ROS dan COX-2 (Sudiana, 2017). Pada suatu penelitian terkait pemberian kalsium hidroksida sebagai material *pulpcapping* dilaporkan bahwa respons inflamasi masih terjadi pada hari ke-7 disebabkan oleh sifat kalsium hidroksida yang dapat menyebabkan nekrosis sel. Pada pemberian kombinasi kalsium hidroksida-propolis tampak jumlah ekspresi TNF- α meningkat di hari ke-7 dibandingkan dengan hari ke-3. Pada umumnya respons inflamasi telah selesai dalam 8-15 hari, namun pada beberapa kasus dapat berlangsung hingga 39 hari, yang berarti pada hari ke-7 proses inflamasi masih berlangsung (Zubaidah *et al.*, 2021). Berdasarkan penelitian Karlis *et al.*, (2020) dilaporkan bahwa TNF- α memiliki peran dalam proses inflamasi kronis. Pada kultur fibroblas gingiva yang diberi perlakuan ligan TLR-4 berupa LPS *Porphyromonas gingivalis* pada hari ke-3, 7, dan 21 dapat meningkatkan ekspresi TNF- α pada jumlah tertinggi di hari ke-7 dan menurun di hari ke-21.

Pada fase penyembuhan, TGF- β merupakan faktor pertumbuhan yang berperan pada proliferasi dan diferensiasi fibroblas. Isoform TGF- β yang dominan berperan pada pembentukan matriks dentin adalah TGF- β 1. TGF- β 1 akan disintesis selama pembentukan dentin reparatif (Niwa *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2020). Saat terjadi perforasi pulpa maka sebagian sel odontoblas mengalami kerusakan. Sel odontoblas dalam pulpa bersifat *terminally differentiated* sehingga tidak dapat berproliferasi menggantikan sel yang rusak, maka fibroblas berperan sebagai sel

odontoblastoid. Fibroblas berdiferensiasi menjadi *odontoblast like-cells* yang akan mensintesis kolagen tipe I yang merupakan *marker* proses penyembuhan. Kolagen tipe I merupakan jenis kolagen yang tersusun lebih dari 90% dalam pembentukan dentin. Sintesis kolagen dimulai sejak awal proses penyembuhan yaitu hari ke-3 hingga hari ke-5 dan berlanjut selama beberapa minggu tergantung pada luas penyembuhan (Dwiandhono *et al.*, 2016).

Alkaline phosphatase (ALP) mempunyai peran penting pada mekanisme perbaikan dan penyembuhan pulpa. Konsentrasi ALP pada odontoblas dan *sub odontoblast-like cells* lebih tinggi daripada konsentrasi ALP dari *undifferentiated mesenchym* sel pulpa. Sel pulpa pada keadaan normal tidak memproduksi ALP. Aktivitas ALP berubah bila sel memulai program diferensiasi terminal selama pembentukan dentin. Aktivitas ALP meningkat secara signifikan pada hari ke-7 sampai hari ke-14 (Salem *et al.*, 2021).

Dentin Matrix Protein-1 (DMP-1) merupakan komponen penting dari matriks non-kolagen ekstraselular pada pembentukan gigi dan tulang. Pola ekspresi DMP-1 selama perkembangan gigi konsisten, yang mempunyai peran penting sebagai protein dalam mineralisasi dentin. Jumlah DMP-1 pada proses pembentukan dentin reparatif dapat mulai diamati pada hari ke-7 setelah aplikasi dan meningkat sampai maksimal pada hari ke-14 (Sumidarti *et al.*, 2020).

Berbagai upaya terus dilakukan untuk menemukan suatu material bersifat obat yang dapat meminimalkan proses inflamasi pulpa dan pada saat yang sama dapat menstimulasi pembentukan dentin reparatif. Salah satunya adalah tanaman daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff). Daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) merupakan salah satu tanaman obat tradisional Indonesia, yang

mempunyai sifat antiinflamasi dan antioksidan sehingga diharapkan dapat meredakan reaksi inflamasi pada pulpa dan memicu pembentukan dentin reparatif. Senyawa aktif daun ungu antara lain flavonoid, tanin, alkaloid non toksik, steroid, saponin, dan glikosida (Tjahjani *et al.*, 2016).

Komponen aktif daun ungu yang memiliki mekanisme sebagai antiinflamasi berasal dari kandungan flavonoid dan alkaloid. Flavonoid daun ungu menghambat siklooksigenase dan lipooksigenase, alkaloid menghambat pembentukan prostaglandin (Rachim *et al.*, 2020). Uji kandungan flavonoid pada ekstrak etanol daun ungu dilakukan melalui pemeriksaan dengan spektrofotometer *uv-visible* diamati dengan sinar ultraviolet panjang gelombang 366 nm, tampak berfluorosensi kuning intensif, menunjukkan adanya flavonoid (Suhargo and Winarni, 2021). Flavonoid yang telah diidentifikasi dari ekstrak daun ungu melalui uji HPLC yaitu flavonol quercetin, kaempferol dan myricetin. Mekanisme daun ungu sebagai antiinflamasi telah diteliti melalui ikatan antara flavonol dengan TLR-2, dan mengakibatkan penurunan kadar TNF- α melalui penghambatan NF κ B (Kurniawati *et al.*, 2020; Elmitra, 2018).

Sampai saat ini belum ada penelitian ekstrak daun ungu yang digunakan sebagai antiinflamasi pada hewan coba dengan perforasi pulpa akibat jejas mekanis melalui jalur hambatan pada TLR-4, dan potensinya pada pembentukan dentin reparatif sebagai upaya mempertahankan vitalitas pulpa gigi. Berdasarkan fakta tersebut maka timbul peluang untuk menganalisis ekspresi dalam pembentukan dentin reparatif pada hewan coba dengan perforasi pulpa yang diberi ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff).

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun ungu 10% berdasarkan pada penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa ekstrak etanol daun ungu konsentrasi 10% memiliki potensi meningkatkan proliferasi fibroblas dan sabut kolagen gingiva, menurunkan jumlah osteoklas tulang alveolar tikus Wistar yang diinduksi bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Ditunjang oleh penelitian pendahuluan yang telah dilakukan untuk menganalisis biokompatibilitas ekstrak daun ungu terhadap fibroblas BHK-21 melalui MTT *assay*, dan diperoleh bahwa pada pemberian ekstrak daun ungu 10% pada kultur fibroblas BHK-21 didapatkan prosentase fibroblas yang hidup sebesar 93,12%, sehingga konsentrasi tersebut dinyatakan tidak toksik (Catunda *et al.*, 2017; Rachim *et al.*, 2020; Kurniawati, 2020; Brahmantyo *et al.*, 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui *molecular biologic therapeutic effect* ekstrak etanol daun ungu 10% melalui regulasi pro dan antiinflamasi pada jaringan pulpa. Pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) melalui TLR-4 sebagai reseptor molekul DAMPs dengan kemampuan hambatan pada NF κ B sehingga terjadi penurunan sitokin proinflamasi yaitu salah satunya TNF- α . Ekstrak daun ungu memiliki kemampuan menghambat mediator inflamasi sehingga proses penyembuhan jaringan terinflamasi akan berjalan lebih cepat menuju ke fase proliferasi, Fase proliferasi akan ditandai dengan peningkatan TGF- β 1 sebagai salah satu *growth factor*. TGF- β 1 berperan dalam proliferasi dan diferensiasi sel progenitor pulpa menjadi *odontoblast-like cells*. Pada penelitian ini diharapkan terjadi kesembuhan inflamasi pulpa yang ditandai dengan meningkatnya jumlah *odontoblast-like cells*, pembentukan kolagen tipe I yang menjadi penanda pembentukan dentin reparatif, oleh karena kolagen tipe ini 90%

terdapat pada matriks organik dentin, terjadi peningkatan ekspresi DMP-1, dan peningkatan aktivitas enzim ALP. Kemampuan ekstrak daun ungu dalam meningkatkan aktivitas enzim ALP, diharapkan dapat memicu terjadinya proses mineralisasi pada jaringan kolagen sehingga terbentuk dentin reparatif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian tersebut, maka timbul permasalahan sebagai berikut:

Bagaimana mekanisme pembentukan dentin reparatif melalui ekspresi TLR-4, TNF- α , TGF- β 1, *odontoblast like-cells*, *col-1*, DMP-1 dan ALP pada perforasi pulpa gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) ?

Rumusan masalah tersebut dapat dijabarkan dalam sub rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat penurunan jumlah ekspresi TLR-4 dan TNF- α setelah pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) dalam mekanisme pembentukan dentin reparatif pada perforasi pulpa gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?
2. Apakah terdapat peningkatan jumlah ekspresi TGF- β 1, *odontoblast like-cells*, *Col-I*, DMP-I, dan ALP setelah pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff) dalam mekanisme pembentukan dentin reparatif pada perforasi pulpa gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) ?
3. Apakah terdapat jalur mekanisme pembentukan dentin reparatif setelah pemberian ekstrak daun ungu melalui ekspresi TLR-4, TNF- α , TGF- β , *odontoblast-like cells*, *col-I*, DMP-1 dan ALP ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan mekanisme jalur pembentukan dentin reparatif melalui ekspresi TLR-4, TNF- α , TGF- β 1, *odontoblast like-cells*, *Col-I*, DMP-1, dan ALP pada perforasi pulpa gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis penurunan jumlah ekspresi TLR-4 dan TNF- α dalam mekanisme pembentukan dentin reparatif pada perforasi pulpa gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff)
2. Menganalisis peningkatan ekspresi TGF- β 1, *odontoblast like-cells*, *Col-I*, DMP-1, dan ALP dalam mekanisme pembentukan dentin reparatif pada perforasi pulpa gigi tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff).
3. Menganalisis jalur mekanisme pembentukan dentin reparatif setelah pemberian ekstrak daun ungu melalui ekspresi TLR-4, TNF- α , TGF- β 1, *odontoblast-like cells*, *col-I*, DMP-1 dan ALP.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Memberikan kontribusi keilmuan dalam menjelaskan mekanisme pembentukan dentin reparatif melalui ekspresi TLR-4, TNF- α , TGF- β 1, *odontoblast like-cells*, *Col-I*, DMP-1, dan ALP pada perforasi pulpa gigi tikus putih

(*Rattus norvegicus*) setelah pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.)Griff).

1.4.2 Manfaat praktis

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar upaya pengembangan material perawatan *direct pulpcapping* berbahan dasar herbal dengan potensi antiinflamasi dan osteogenik, yang kelak dapat digunakan sebagai kombinasi pasta kalsium hidroksida, sebagai upaya mempertahankan vitalitas pulpa.